

## 酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(麝香草酚酞微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

酸性磷酸酶(acidphosphatase, ACP)分布极广泛，遍布各种组织，主要存在于细胞的溶酶体内，所以常作为溶酶体标志酶，溶酶体外的酸性磷酸酶存在于内质网和胞质内，各种动物中的酸性磷酸酶各有不同，酸性磷酸酶的适宜 pH 为 4.5~5.5。酸性磷酸酶是一个蛋白家族，哺乳动物中其分子量从 18kD 到 100kD 不等，该酶分为两类，一类为酒石酸盐敏感型，一类为氟离子敏感型。溶酶体中的酸性磷酸酶为酒石酸盐敏感型，而红细胞和巨噬细胞中的酸性磷酸酶为氟离子敏感型。

酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒(麝香草酚酞微板法)(AcidPhosphataseColorimetricAssayKit)检测原理是在酸性条件下酸性磷酸酶(ACP)水解麝香草酚酞，产生麝香草酚酞和无机磷，经碱处理后麝香草酚酞呈蓝色，产物蓝色越深，说明酸性磷酸酶活性越高，反之则酶活性越低，通过酶标仪测定 595nm 处吸光度，据此通过比色分析就可以计算出酸性磷酸酶活性水平，主要用于检测血清中前列腺酸性磷酸酶活性，亦可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的酸性磷酸酯酶活性，100T 该试剂盒可检测约 50 次样品。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

名称	规格	保存条件
酸性磷酸酶(ACP)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):麝香草酚酞标准(3mM)	1ml	4℃避光
试剂(B):标准稀释液	5ml	RT
试剂(C):ACPAssayBuffer	10ml	RT
试剂(D):TMPBuffer	10ml	4℃避光
试剂(E):ACP 终止液	30ml	4℃
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

### 自备材料：

- 1、离心管或试管
- 2、恒温箱或水浴锅
- 3、96 孔板
- 4、酶标仪

### 操作步骤(仅供参考):

#### 1、准备样品:

①血浆、血清和尿液样品: 血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定, 尿液通常也可以直接用于测定,  $-20^{\circ}\text{C}$  冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要可用 PBS 或生理盐水进行适当匀浆, 一般细胞数量在  $10^6$  以上, 组织应在 100mg 以上, 3000-4000g 离心取上清,  $-20^{\circ}\text{C}$  冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

③植物样品: 取适量的植物组织加入少量生理盐水或 PBS, 充分捣碎或研磨, 静置 30min, 用纱布或滤纸过滤, 4000g 离心 20min, 留取上清液并测量体积,  $-20^{\circ}\text{C}$  冻存, 用于酸性磷酸酶的检测。

④高活性样品: 如果样品中含有较高活性的酸性磷酸酶, 可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释, 也可以采用 ACPAssayBuffer 稀释。

2、稀释标准品: 取适量的麝香草酚酞标准(3mM)和标准稀释液, 按下表稀释成 0、0.3mM、0.6mM、0.9mM、1.2mM、1.5mM。

加入物(μl)	0	1	2	3	4	5
麝香草酚酞标准(30mM)	0	5	10	15	20	25
标准稀释液	50	45	40	35	30	25
相当于 ACP 活性(U/L)	0	10	20	30	40	50

3、配制 ACP 检测工作液: 取适量的 ACPAssaybuffer 和 TMPbuffer 等量混合, 即为 ACP 检测工作液;  $4^{\circ}\text{C}$  保存, 1 个月有效。

4、ACP 加样: 按照下表设置对照孔、标准孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的酸性磷酸酯酶活性过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行孔。

加入物(ml)	对照孔	标准孔	测定孔
待测样品	—	—	0.01
系列麝香草酚酞标准	—	0.01	—
ACP 检测工作液( $37^{\circ}\text{C}$ 预温)	0.1	0.1	0.1
$37^{\circ}\text{C}$ 准确保温 30min。			
待测样品	0.01	—	—
ACP 终止液	0.2	0.2	0.2

5、ACP 测定: 轻轻混匀, 酶标仪测定 595nm 处吸光度; 对于制作标准曲线: 以标准曲线的“0”号孔调零, 读取系列麝香草酚酞标准(1~5 号)的吸光度(记为 A 标准); 对于测定孔, 以蒸馏水调零, 读取对照孔、测定孔的吸光度(记为 A 对照、A 测定)。

计算:

ACP 酶活性单位 10、20、30、40、50U/L 为横坐标，以系列标准(1~5 号)的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线；测定孔的吸光度减去对照孔的吸光度(即 A 测定-A 对照)，查标准曲线，求得 ACP 酶活性单位。

组织或植物粗酶液获得率(ml)=上清液体积(ml)/组织或植物质量×100%

**注意事项：**

- 1、待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 2、建议每次测定时都做标准曲线，以使标准更准确，另外标准品需避免反复冻融。
- 3、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应考虑根据 96 孔板的最大检测体积。
- 4、所测样品的值高于标准曲线的上限，应用 ACPAssayBuffer 稀释样品后重新测定。
- 5、1 支显色工作液配制后需当日使用完毕，因此请注意适当多准备一些样品一起检测。
- 6、如果希望进行酶活性的绝对定量，进行酶反应时应精确计时，此时推荐采用孵育 30min 或更长时间，以减小操作过程中的时间误差。
- 7、待测样品中酸性磷酸酶活性较低时，可适当延长孵育时间。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。